

Aplicação da Microextração em Fase Sólida na Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria de Alimentos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 110

Aplicação da Microextração em Fase Sólida na Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

Izabela Miranda de Castro

Marianna Ramos dos Anjos

Leila Martins da Costa Quinteiro

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Rio de Janeiro, RJ

2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agroindústria de Alimentos

Av. das Americas, 29501 - Guaratiba.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil - CEP 23020-470

Fone: (21) 3622-9600

Fax: (21) 3622-9713

<http://www.ctaa.embrapa.br>

sac@ctaa.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Virgínia Martins da Matta

Membros: Andre Luis do Nascimento Gomes, Daniela de Grandi Castro Freitas, Luciana Sampaio de Araújo, Marcos Jose de Oliveira Fonseca, Marília Penteado Stephan, Michele Belas Coutinho, Renata Galhardo Borguini, Renata Torrezan

Supervisão editorial: Virgínia Martins da Matta

Revisão de texto: Edson Watanabe

Normalização bibliográfica: Luciana Sampaio de Araújo

Tratamento de ilustrações: Marcos Moulin e Andre Luis do Nascimento Gomes

Editoração eletrônica: Marcos Moulin e Andre Luis do Nascimento Gomes

Ilustração da capa: Marcos Moulin

1ª edição

1ª impressão (ano): 50 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agroindústria de Alimentos**

Aplicação da microextração em fase sólida na determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos / Izabela Miranda de Castro, Marianna Ramos dos Anjos, Leila Martins da Costa Quinteiro. – Rio de Janeiro : Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2010.

24 p. ; 21 cm. – (Documentos / Embrapa Agroindústria de Alimentos, ISSN 1516-8247 ; 110).

1. Agrotóxico. 2. Resíduo químico. 3. Análise. 4. Alimento. I. Anjos, Marianna Ramos dos. II. Quinteiro, Leila Martins da Costa. III. Título. IV. Série.

CDD 363.192 (21. ed.)

Autores

Izabela Miranda de Castro

Química, Ph.D. em Geoquímica Orgânica Molecular,
pesquisadora da Embrapa Agroindústria de
Alimentos, Rio de Janeiro, RJ,
imcastro@ctaa.embrapa.br

Marianna Ramos dos Anjos

Química, analista da Embrapa Agroindústria de
Alimentos, Rio de Janeiro, RJ,
marianna@ctaa.embrapa.br

Leila Martins da Costa Quinteiro

Farmacêutica, D.Sc. em Química Orgânica,
Professora Adjunta da Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, quinteiro@ufrj.br

Apresentação

A suscetibilidade de algumas culturas ao ataque de pragas e doenças implica, comumente, no uso excessivo de defensivos agrícolas. Antes e durante o plantio, os agricultores, visando proteger a sua produção, utilizam grandes quantidades de agrotóxicos de forma preventiva e indiscriminada. Este tipo de prática, infelizmente comum, pode vir a gerar alimentos contaminados por resíduos de agrotóxicos fora dos padrões de saudabilidade.

Torna-se, então, imprescindível o monitoramento dos níveis residuais dos agrotóxicos de maneira a atender às expectativas dos consumidores quanto à qualidade e segurança dos alimentos que ingerem. Métodos de quantificação com alta sensibilidade, e apresentando baixos limites de detecção e quantificação, tornam mais eficaz o controle desses contaminantes.

Este documento descreve um método de análise utilizando a microextração em fase sólida e cromatografia gasosa de alta resolução (MEFS-CGAR), capaz de detectar resíduos distintos de agrotóxicos em concentrações muito baixas desses analitos. Este trabalho está inserido nos objetivos estratégicos da Unidade no que tange a qualidade e inocuidade dos alimentos e espera-se que seja útil para todos aqueles que contribuem na forma de análises para a maior racionalização do uso dos agrotóxicos e o monitoramento de eventuais resíduos.

Regina Celi Araujo Lago
Chefe Geral
Embrapa Agroindústria de Alimentos

Sumário

Introdução	09
Microextração em fase sólida (MEFS)	11
O instrumento para a MEFS	12
Etapas que compõem a técnica de MEFS	13
Amostras analisadas	14
Origem das amostras	14
Preparo das amostras para MEFS	15
Análise dos resíduos de agrotóxicos	16
Método convencional de extração e análise de organoclorados	16
Procedimentos para MEFS-ID/CG/DCE	16
Extração	16
Análise cromatográfica (CGAR-DCE)	17
Princípios ativos	17
Reagentes e solventes	17
Análises multirresíduos de organoclorados	18
Análise de alface de cultivo orgânico e convencional	19
Parâmetros de validação	20
Análise de tomate de cultivo orgânico	21
Considerações finais	23
Referências	23

Aplicação da Microextração em Fase Sólida na Determinação de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos

Izabela Miranda de Castro

Marianna Ramos dos Anjos

Leila Martins da Costa Quinteiro

Introdução

O uso de agrotóxicos no combate de pragas e doenças é amplamente praticado na agropecuária. Algumas culturas são bastante susceptíveis a pragas e doenças e os produtores, no intuito de proteger sua produção, utilizam grandes quantidades de defensivos agrícolas (fungicidas, inseticidas, dentre outros), muitas vezes de forma preventiva, indiscriminada e em excesso. Os resíduos destes agrotóxicos permanecem nas plantas e nos frutos, contaminando a produção, tornando os alimentos com níveis residuais fora dos padrões saudáveis. Além disso, os defensivos aplicados intensamente nas lavouras poderão ficar retidos no solo e, posteriormente, serem transportados até os corpos d'água na época das chuvas, causando também a sua contaminação (PIMENTEL, 1996).

O controle das concentrações residuais de agrotóxicos nos alimentos e nas águas das bacias hidrográficas próximas às áreas de plantio assume um papel muito importante nos dias atuais. A única forma deste controle ser feito é monitorar o uso e a ocupação das terras por atividades agrícolas a tempo de impedir o comprometimento dos recursos naturais. O uso dos solos sem preocupações conservacionistas explora extensivamente as bacias hidrográficas, leva a desmatamentos, empobrecimento de solos e, conseqüentemente, a redução da oferta hídrica. Começam a ocorrer processos erosivos devido à falta de cobertura natural, intensificando o

transporte de agrotóxicos usados nas lavouras contaminando assim os corpos hídricos.

A toxicidade dos agrotóxicos e o uso intenso de defensivos na agricultura causam muita preocupação devido ao risco inerente à ingestão de alimentos contaminados. Os inseticidas organoclorados permanecem no meio ambiente por muitos anos, uma vez que são resistentes à degradação, podendo estar presentes no solo, na água, e conseqüentemente nos alimentos, mesmo que não tenham sido utilizados diretamente no sistema de produção. O uso de organoclorados foi banido na maioria dos países do mundo devido ao desequilíbrio ambiental que provocavam. Com a diminuição do uso dos organoclorados, os organofosforados e seus compostos relacionados – os carbamatos – começaram a ser utilizados intensamente como inseticidas. Apesar de provocarem menor impacto ambiental, estes compostos são altamente tóxicos para seres humanos. Como conseqüência do uso intenso de defensivos na agricultura, o grau de contaminação dos alimentos precisa, necessariamente, ser conhecido. Torna-se imprescindível o monitoramento dos níveis residuais desses pesticidas buscando garantir a segurança do consumidor de acordo com os limites máximos (LMR) estabelecidos por órgãos públicos oficiais.

Como resposta da população, o consumo de alimentos orgânicos tem aumentado em função da preocupação do consumidor em não ingerir produtos com agrotóxicos. No entanto, pouco se sabe sobre a presença de resíduos de defensivos em tais produtos quando comparada aos produtos equivalentes de plantio convencional. O objetivo deste trabalho foi apresentar um método de análise utilizando a microextração em fase sólida (MEFS) (QUINTEIRO et al., 2003) capaz de detectar resíduos distintos de agrotóxicos em concentrações muito baixas desses analitos em amostras de cultivo orgânico e convencional.

Microextração em fase sólida (MEFS)

Métodos de rotina de análise de resíduos de agrotóxicos são geralmente demorados, consomem grandes quantidades de solventes e exigem uma preparação de amostra específica que é realizada em várias fases. O controle dos aspectos que concernem à segurança alimentar de produtos agrícolas e industrializados é sempre necessário, pois estes produtos podem apresentar resíduos de agrotóxicos em concentrações acima dos Limite Máximo de Resíduos (LMR) permitidos pela legislação. Alimentos fora dos padrões de fitossanidade podem afetar a saúde do consumidor e isto exige a fiscalização contínua dos mesmos. É então necessário que existam métodos analíticos capazes de realizar um controle efetivo de resíduos, sendo que, neste contexto, quanto mais baixos forem os limites de detecção e quantificação mais eficaz será o controle desses contaminantes.

A Microextração em Fase Sólida (MEFS) foi introduzida em 1990 por Pawliszyn (ARTHUR; PAWLISZYN, 1990; PAWLISZYN, 1997). Esta microtécnica de extração e de pré-concentração de analitos é realizada mediante adsorção dos analitos por uma camada polimérica que reveste uma fibra capilar de sílica após imersão na solução a ser analisada. Após determinado tempo de extração, a fibra é então inserida no injetor do cromatógrafo gasoso (CG). Nesta fase, os analitos são dessorvidos da fibra devido à alta temperatura do injetor e analisados por cromatografia gasosa. No caso dos resíduos de organoclorados usou-se o sistema CG-ECD, ou seja, cromatógrafo gasoso equipado com um detector de captura de elétrons que é específico para este tipo de molécula.

Na MEFS, a microcamada polimérica da fibra de extração reveste 1cm da superfície externa de um pequeno segmento de fibra ótica de sílica fundida. Esta camada, com volume de 0,03 a 0,7mL e espessura de 7 a 100nm, é considerada a fase estacionária imobilizada no suporte de fibra, que possui 300µm de diâmetro externo e 4,5cm de comprimento. Durante a amostragem, a fibra revestida pela microcamada é exposta à matriz para entrar em contato com os analitos que, por partição, serão concentrados na fase estacionária. Em um determinado momento, a fibra revestida é removida da amostra e inserida no injetor do cromatógrafo.

O instrumento para a MEFS

O instrumento completo para a microextração é denominado de amostrador e está representado na Figura 1. Ele é composto por um corpo cilíndrico com uma fenda em “Z” por onde o pino travador desliza, apresentando, em sua extremidade superior, um lançador e, na inferior, uma agulha oca de aço inoxidável (inox) com 560mm de diâmetro externo. A agulha forma um canal que armazena toda a extensão da fibra e parte de um pequeno tubo inox que está colado na agulha. A outra extremidade desse pequeno tubo é envolta por uma pequena mola, e fica em contato com o lançador, obedecendo a seu mecanismo da seguinte maneira: o lançador, ao ser pressionado, empurra o tubo, comprimindo a mola, e, como consequência, a fibra desliza através da agulha, se expondo ao meio externo ou é recolhida quando puxada. O pino travador, fixado no lançador, acompanha esse movimento na extensão da fenda em “Z” e, posicionado no centro dessa fenda, ele impede a subida do lançador, mantendo, assim, a fibra exposta.

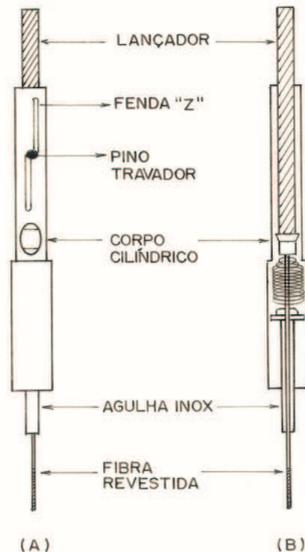


Figura 1 - Instrumento de amostragem direta para a SPME onde (A) vista externa, mostrando a posição de trava – pino no centro da fenda – mantendo a fibra exposta e (B) vista interna para visualização da parte removível com a fibra exposta.

Etapas que compõem a técnica de MEFS

A operação da microextração por imersão direta (MEFS-ID) pode ser dividida em duas etapas: extração e dessorção. A extração do analito é a primeira etapa do processo analítico e ocorre quando a fase estacionária entra em contato com a matriz. A sequência operacional encontra-se ilustrada na Figura 2.

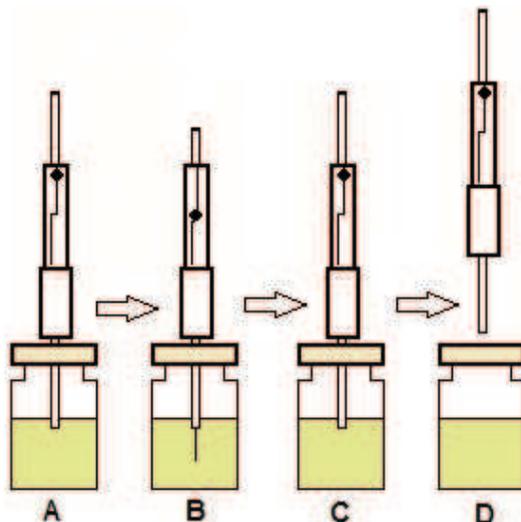


Figura 2 - Esquema sequencial da extração por SPME onde (A) a perfuração do septo que veda o frasco que contém a amostra pela agulha do amostrador; (B) exposição da fibra no seio da matriz, por um determinado tempo para se processar a extração de analitos; (C) recolhimento da fibra para dentro da agulha; (D) retirada da agulha.

No final da extração, o amostrador é levado para a etapa de dessorção. Esta segunda etapa do processo ocorre quando os analitos, adsorvidos na fase estacionária, são expulsos desta e carreados para subsequente análise cromatográfica. O processo de dessorção na cromatografia gasosa é promovido pela temperatura. A Figura 3 representa um esquema da sequência operacional para a dessorção térmica. Excelentes sinais cromatográficos em CG são produzidos quando são utilizados altos fluxos de gás carreador (He) e temperatura máxima permitida pela estabilidade do revestimento da fibra.

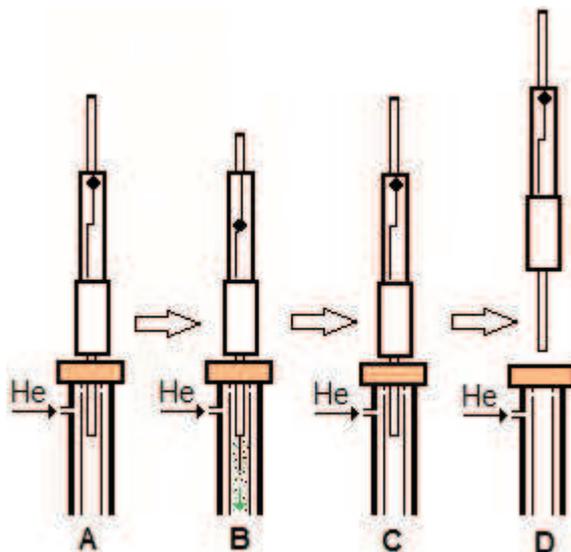


Figura 3 - Esquema sequencial da desorção em CG onde (A) a perfuração do septo do injetor do cromatógrafo; (B) exposição da fibra no interior do liner do injetor, por um tempo determinado, para se processar a desorção de analitos que são arrastados pelo gás carreador (He) para a coluna cromatográfica; (C) recolhimento da fibra para dentro da agulha; (D) retirada da agulha.

Amostras analisadas

Origem das amostras

Foram avaliadas amostras de alface oriundas de cultivo orgânico e convencional e de tomate de cultivo orgânico.

Alface (*Lactuca sativa L.*)

Para avaliação dos resíduos de agrotóxicos foram coletadas doze plantas para compor uma amostra.

Foram coletadas três amostras de alfaces lisas cultivadas de forma orgânica coletadas no Município de Maricá no Estado do Rio de Janeiro, Brasil; quatro amostras de alfaces crespas foram adquiridas no comércio varejista da região de Teresópolis, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, sendo

duas amostras de alface cultivadas de forma orgânica e duas amostras cultivadas de forma convencional. Os dois tipos de amostra são provenientes de áreas próximas.

Tomate (*Lycopersicon esculentum*)

Para avaliação dos resíduos dos inseticidas organoclorados foram coletadas 24 amostras de tomate provenientes de cultivo orgânico produzidas no Campo Experimental da Embrapa Hortaliças. Cada amostra era composta por, no mínimo, 2 kg de frutos.

Preparo das amostras para MEFS

Alface: cada amostra, com 12 plantas cada, foi homogeneizada em processador para obtenção de um extrato. 1g do extrato homogeneizado foi transferido para tubo de ensaio com 25 mL de água ultrapura e homogeneizado em Ultra Turrax® a 6500rpm por 2 minutos. A mistura resultante foi transferida para balão volumétrico de 50 mL e avolumada com água ultrapura. A seguir a mistura foi filtrada primeiramente em papel de filtração rápida e, em seguida, em papel de filtração lenta. Da solução aquosa filtrada, retirou-se 15mL que foram então usados para a microextração à temperatura ambiente média de 20°C. A extração dos organoclorados por MEFS nesta matriz foi feita usando a fibra PDMS (polidimetilsiloxano) de espessura de 30µm e com um tempo de extração (t_E) de 20min sob agitação magnética de 380rpm.

Tomate: cada amostra de tomate (mínimo de 2 kg de frutos/amostra) foi triturada e homogeneizada em processadores para obtenção de polpa. Todas as polpas foram armazenadas em freezer a -20°C, enviadas para a Embrapa Agroindústria de Alimentos, acondicionadas sob refrigeração e mantidas no freezer até o momento da análise. As análises de tomate orgânico foram efetuadas a partir de 1g de polpa de tomate. A amostra foi dissolvida em 20mL de água ultrapura e a mistura é homogeneizada em Ultra-Turrax® a 6500rpm. O extrato obtido foi filtrado em papel de filtro de filtração lenta, avolumado em balão volumétrico de 20mL com água ultrapura e transferido para o frasco extrator. A extração por MEFS dos analitos organoclorados foi efetuada usando a fibra PDMS-30 com um tempo de extração de 30min sob agitação magnética de 380rpm (ANJOS; CASTRO, 2009).

Análise dos resíduos de agrotóxicos

Método convencional de extração e análise de organoclorados

As análises de resíduos pelo método convencional são baseadas nos métodos oficiais da Holanda (ZONEN, 1996) e foram aplicadas em todas as amostras de alface. O método consiste na extração em Ultra-Turrax® de 15g de amostras homogeneizadas com 30 mL uma mistura de acetona e diclorometano (1:1) por 30min, adição de 30 mL de hexano e extração por mais 30min, adição de sulfato de sódio anidro seguida de filtração. Todo filtrado é transferido para balão volumétrico sendo avolumado com hexano. Uma alíquota é retirada, evaporada sob nitrogênio até *secura* e ressuspensa em 1 mL de hexano. A solução é então analisada por cromatografia gasosa acoplada a detector de captura de elétrons, usando padronização externa.

Foi utilizado um cromatógrafo Trace 2000 fabricado pela Thermo Scientific equipado com detector de captura de elétrons (CG-DCE); coluna DB 1701 P(30m x 0,32mm x 0,25µm); programação do forno 50°C (1min), 50-210°C a 50°C/min, 210-290°C a 4°C/min, 290°C (1min); injetor *splitless* a 250°C, tempo de abertura da válvula 0,8 min; gás de arraste He (vazão de 1,1 mL/min.); DCE 300°C; gás de *make-up* N₂ (30 mL/min).

Procedimentos para MEFS-ID/CG/DCE

Extração

Antes de iniciar a microextração, a fibra, PDMS-30, foi limpa e ativada (condicionamento) no injetor do CG à temperatura de 250°C por 1 hora, seguindo as recomendações do fabricante. Todas as microextrações, sem exceção, foram realizadas por imersão direta (ID) da fibra PDMS-30, como está mostrado na Figura 2, usando frascos extratores de vidro específicos para a MEFS contendo 15mL (alface) ou 20mL (tomate) da fase líquida a ser extraída. A fibra foi imersa por 20min (alface) ou 30min (tomate) para a extração dos analitos a temperatura ambiente (média de 20°C). Para a dessorção térmica dos analitos, a fibra foi inserida no injetor do cromatógrafo gasoso a 250°C, no modo *splitless* por 2 minutos.

Como prática de rotina, entre uma análise e outra, a fibra foi exposta por três minutos no injetor a 250°C para dessorver os analitos remanescentes

eliminando assim um possível efeito memória. Após a exposição, a microfibra foi lavada com água ultrapura sob agitação por 5min e submetida a secagem por 2min no injetor (250°C). Uma solução branco foi analisada a cada três amostras, em todos os experimentos, servindo para monitorar o grau de saturação/performance da microfibra.

Análise cromatográfica (CGAR-DCE)

A quantificação dos analitos organoclorados (OCs) nas amostras de alface foi realizada utilizando as soluções padrão Mix OC diluídas com água ultrapura em diferentes concentrações. Cada solução (ponto da curva) foi submetida à MEFS-ID e depois à análise cromatográfica no sistema CGAR-DCE para a construção das curvas de calibração de cada um dos analitos. Após a MEFS-ID dos extratos aquosos de alface (diluição 1:50), a seringa com os analitos adsorvidos na fibra revestida, foi inserida no injetor a 250°C do cromatógrafo onde ocorre a dessorção. Depois da análise por CGAR-DCE os analitos foram quantificados por padronização externa utilizando a curva obtida por MEFS-ID das soluções padrão de OC. Utilizou-se um cromatógrafo Trace® 2000 fabricado pela Thermo Scientific equipado com detector de captura de elétrons (CG-DCE); coluna DB-XLB (30m x 0,25mm x 0,25µm); programação do forno 50°C (1min), 50-210°C a 50°C/min, 210-290°C a 4°C/min, 290°C (1min); injetor splitless a 250°C, tempo de abertura da válvula 2min; gás de arraste He com vazão de 1,1 mL/min; DCE 300°C; gás de *make-up* N₂ (30 mL/min).

Princípios ativos

Os padrões certificados de agrotóxicos organoclorados utilizados nestes estudos foram produzidos por Riedel de Haen (Pestanal) e Dr. Ehrenstorfer. Os analitos monitorados foram aldrin, dieldrin, lindano, mirex, 4'4-DDE, 4'4-DDT e TDE. Para a matriz tomate, além dos analitos já citados, também foi analisado o heptacloro.

Reagentes e solventes

Os solventes orgânicos usados foram metanol grau Pesticida da Tedia para os preparos de soluções padrão individuais de cada agrotóxico; para a extração convencional líquido-líquido utilizou-se diclorometano, acetona e hexano grau Pesticida da Tedia; água ultrapura (destilada e deionizada) obtida diariamente de um sistema de purificação de água Milli-Q da Millipore (Bedford, MA, USA) com condutividade de 18mW; o sulfato de sódio anidro

fabricado pela Vetec foi limpo com diclorometano em Soxhlet (refluxo por 4 horas).

Análises multirresíduos de organoclorados

A microextração em fase sólida tem sido muito usada para a extração, concentração e determinação de resíduos e contaminantes (QUINTEIRO et al., 2003). No entanto, a aplicação desta técnica diretamente em produtos agrícolas não é frequente devido à grande possibilidade de interferência das substâncias inerentes às matrizes complexas ou mesmo partículas (resíduo da extração) que podem vir a danificar a microfibras. Para resolver este problema, adequando-se o uso de MEFS para alimentos, foram estabelecidos, neste estudo, procedimentos para evitar o efeito matriz e prejuízo à microfibras.

Na MEFS, para alcançar um máximo de eficiência na extração de todos os analitos é sempre necessário que o método aplicado seja desenvolvido e otimizado. Na MEFS, a agitação costuma influenciar positivamente a extração, uma vez que facilita a transferência do analito da fase aquosa para a fibra. Nos estudos de Pawliszyn (1997) se menciona que a eficiência da extração pode ser aumentada pela agitação da solução aquosa, sendo importante mantê-la constante para obter reprodutibilidade nos resultados. Da mesma forma que a velocidade de agitação, os tempos de extração (t_E) e de dessorção (t_D) foram otimizados de modo a proporcionar as maiores áreas possíveis dos picos cromatográficos obtidos. Foram estudadas as velocidades de extração de 0, 155, 380 e 870rpm, os tempos de extração (t_E) de 15, 20 e 25min e tempo de dessorção (t_D) de 1, 2, e 4min. Após otimização fixou-se a agitação em 380rpm, o t_E em 20 minutos e o t_D de 2min, temperatura do injetor de 250°C no modo splitless com abertura de válvula de 2min como a ideal para análise.

A presença de resíduos de agrotóxicos em alimentos já foi relatada mesmo quando se trata de produtos provenientes de cultivo orgânico. Os organoclorados permanecem no meio ambiente por muitos anos e são resistentes à degradação. Podem estar presentes no solo, na água, e conseqüentemente, contaminar os alimentos mesmo que não tenham sido utilizados diretamente nos sistemas de produção. Análises de resíduo efetuadas pelo método tradicional em extrato de tomate revelaram a presença de lindano (CASTRO et al., 2003). Em outro estudo, análises

tanto pelo método tradicional como por MEFS em amostras de suco de maracujá orgânico mostraram a presença de mirex (organoclorado) (CASTRO et al., 2004).

Análise de alface de cultivo orgânico e convencional

Para tornar o método por microextração mais eficiente e preciso, utilizou-se a MEFS-ID/CGAR-DCE em amostras de alface de cultivo orgânico e convencional adquiridas no mercado. Os cromatogramas obtidos para as quatro amostras (orgânicas e convencionais) mostraram um pico com tempo de retenção (t_R) compatível com um dos padrões monitorados. A Figura 4A mostra o cromatograma obtido para a amostra de alface orgânica, onde se observa um pico com tempo de retenção (t_R) de 20,77min que por comparação com os t_R dos padrões mostrados na Figura 4B, poderia ser o DDE, metabólito do DDT. A confirmação da presença de DDE nas amostras foi realizada por coinjeção dos extratos aquosos de todas as amostras estudadas com solução padrão de DDE. Após análise por MEFS-ID, observou-se que a área do pico com t_R de 20,77min foi aumentada, evidenciando então a identificação inequívoca deste agrotóxico organoclorado nas amostras.

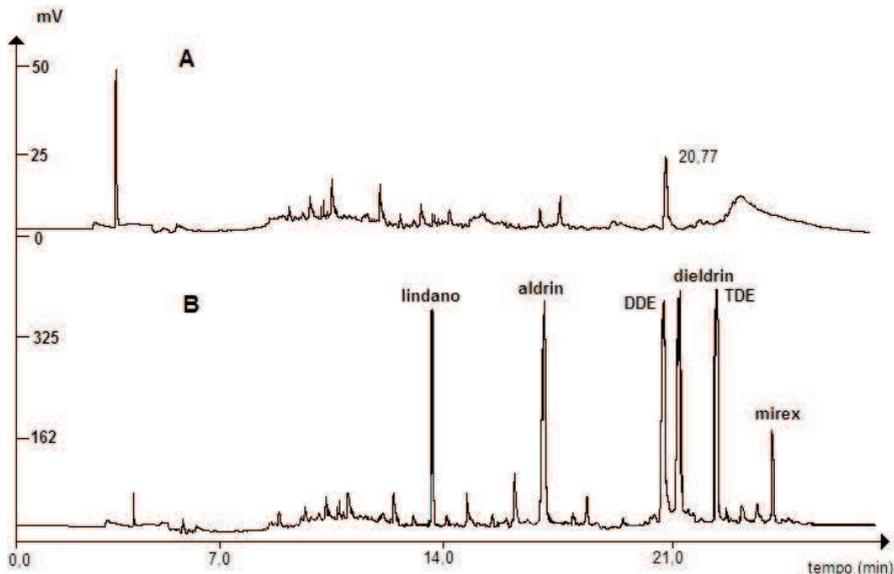


Figura 4 - Cromatograma obtido após análise por MEFS-ID/CGAR/DCE do extrato aquoso de alface ACO1 (não fortificada); PDMS-30; $t_E = 20\text{min}$ sob agitação a 380rpm; $t_D = 2\text{min}$ a 250°C. Pico a ser identificado com $t_R = 20,77\text{min}$.

Parâmetros de validação

A faixa de trabalho do método em estudo corresponde ao intervalo de concentrações do analito usadas na composição da curva de calibração que deve, obrigatoriamente, apresentar linearidade. Todas as curvas de calibração de todos os analitos organoclorados monitorados neste ensaio multirresíduo mostraram coeficientes de correlação (R^2) adequados para o método.

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) são as menores concentrações do analito que se pode detectar e quantificar, respectivamente, com precisão e exatidão. O limite de detecção (LD) dos organoclorados por MEFS-ID/CGAR/DCE foi determinado utilizando a sensibilidade do método e o desvio padrão da média das áreas obtidas ($N=3$) por uma concentração de padrão de OC capaz de produzir a menor área possível (menor sinal superior a 3 x ruído da linha base) com boa precisão. Na análise multirresíduo de OC, a concentração foi de 6,0ng/mL e os LDs, calculados pela fórmula $LD=3s/a$ (onde "s" é o desvio padrão da

medida “a” o coeficiente angular da curva). O limite de quantificação (LQ) foi estabelecido utilizando a fórmula $LQ=3LD$. Os valores encontrados para todos os analitos considerados se encontram expostos na Tabela 1.

Tabela 1 - Valores obtidos (N=3) para as medidas realizadas no extrato de alface fortificado com organoclorados por MEFS-ID/CGAR/DCE: coeficiente de correlação (R^2), limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) e recuperação (R%). Os valores nos parênteses referem-se ao DPR da média da % de recuperação

organoclorado	R^2	LD (ng/mL)	LQ (ng/mL)	%R
Lindano	0,9979	1,0	3,0	101,40(6,15)
Aldrin	0,9982	2,0	6,0	103,40(7,19)
DDE	0,9961	1,0	3,0	94,70(13,2)
Dieldrin	0,9993	1,0	3,0	99,01(5,21)
TDE	0,9956	2,0	6,0	92,05(10,80)
Mirex	0,9830	5,0	15,0	70,90(20,6)

Análise de tomate de cultivo orgânico

O método de microextração aplicado para a matriz tomate mostrou-se também bastante eficiente. O processo de preparo e de extração das amostras é rápido e não envolve gasto de solvente orgânico. O uso de solventes ocorre apenas no preparo das soluções padrão usadas na quantificação. As curvas de calibração dos analitos monitorados nas amostras de tomate orgânico foram construídas na faixa de 2,5 a 12,5 μ g/L para todos os componentes. Esta faixa de trabalho é cem vezes menos concentrada que as concentrações usadas nos métodos convencionais de análise. Para os ensaios de recuperação, as amostras foram contaminadas com um Mix dos oito pesticidas organoclorados: aldrin, dieldrin, heptacloro, mirex, lindano, DDE, 4'4, 4'4-DDT e TDE, em dois níveis de 5,0 (nível 1) e 8,0 (nível 2) μ g/Kg. O cromatograma obtido da análise do extrato aquoso de tomate fortificado com os padrões dos oito pesticidas organoclorados é mostrado na Figura 5.

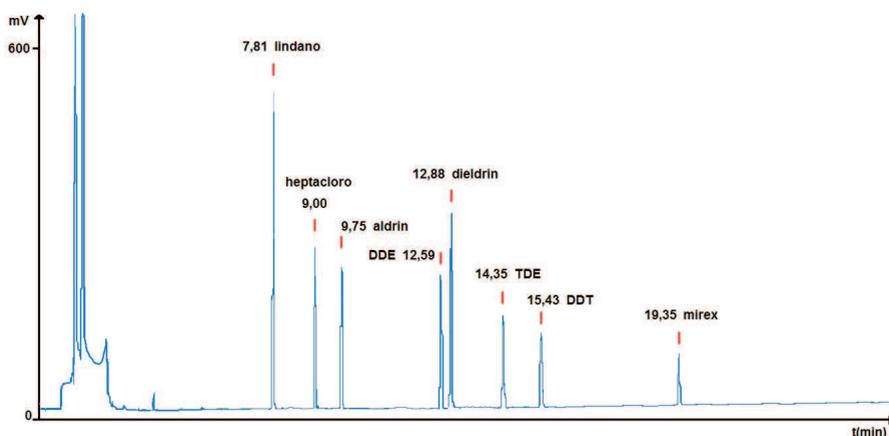


Figura 5 - Cromatograma obtido após análise por MEFS-ID/CGAR/DCE do extrato aquoso de tomate fortificado com Mix de padrões de 8 organoclorados; PDMS-30; $t_e = 30\text{min}$ sob agitação a 380rpm

As recuperações médias obtidas para as oito amostras de pesticidas analisados por este método estão na Tabela 2. Os valores encontrados estavam dentro dos parâmetros estabelecidos para as análises de resíduos: de 70 para 120% (METHOD..., 2009). Resíduos de pesticidas organoclorados não foram detectados em todas as amostras de tomate analisadas.

Tabela 2 - Valores (N=3) de recuperação (R%) obtidos através de medidas realizadas no extrato de tomate orgânico fortificado com organoclorados por MEFS-ID/CGAR/DCE.

Analito	% recuperação
Aldrin	88
4'4'DDE	118
4'4'DDT	95
Dieldrin	105
heptacloro	87
Lindano	116
Mirex	84
TDE	110

Considerações finais

A complexidade das matrizes dificulta a obtenção de extrações quantitativas de agrotóxicos, mas a redução dos componentes interferentes por uma simples diluição e filtração torna possível a quantificação destas substâncias por MEFS-ID. Isto se deve à grande capacidade de reconcentração das microfibras, com as quais se pode efetuar análises em níveis bem baixos de concentração, mas também em níveis mais altos, simplesmente pela diluição da amostra de modo a cair dentro da faixa de linearidade.

Foi possível realizar a quantificação de lindano, heptacloro, aldrin, DDE, dieldrin e mirex em amostras de alface e de tomate por MEFS em concentrações baixas. No caso da amostra de alface, os valores obtidos para a concentração de DDE, calculados pelo método convencional e por MEFS, foram compatíveis entre si, ou seja, não se observou diferença significativa entre eles. Quando se compara a sensibilidade dos dois métodos (convencional e MEFS) fica evidenciado que o limite de detecção do DDE por MEFS foi dez vezes menor. Isto comprova de forma clara a capacidade de extração e reconcentração de solutos pela fase estacionária presente na microfibra.

Referências

ANJOS, M. R., CASTRO, I. M. Utilization of SPME methodology to study recovery and presence of organochlorine pesticides in organic tomato In: 3th International Workshop on Crop Protection in Latin America: Environment, Safety and Regulation, Rio de Janeiro. **CD-ROM 3th International Workshop on Crop Protection in Latin America: Environment, Safety and Regulation**. Rio de Janeiro: ABQ, 2009. v.1.

ARTHUR, C.L.; PAWLISZYN, J. SPME with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal. Chem*, v. 62, p. 2145 – 2148, 1990.

CASTRO, I. M.; GODOY, R.L.O.; QUINTEIRO, L. M. C.; FORRESTER, A. M. S. Análise de lindano em produto processado de tomate. In: III Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2003, Campinas. **CD-ROM do VI SLACA**, 2003.

CASTRO, I. M.; QUINTEIRO, L. M. C.; ANJOS, M.R.; GODOY, R. L. O.; NASCIMENTO, M. G. F. Determinação de mirex por microextração em fase sólida (MEFS) em amostras de suco de maracujá. Anais do CBCTA 2004, In: XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2004, Recife. **Anais do XIX CBCTA**, 2004. v.1.

CASTRO, I. M.; GODOY, R. L. O.; ANJOS, M. R.; QUINTEIRO, L. M. C. Presença de agrotóxicos organoclorados em hortícolas cultivadas em sistema orgânico In: IV Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2005, Campinas. **CD-ROM do VI SLACA**, 2005.

PAWLISZYN, J. **Solid Phase Microextraction – Theory and Practice**. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1997. 247p.

PIMENTEL, D. Green revolution, agriculture and chemical hazards. **The Science of the Total Environment**. 188 (1), S86-S98. 1996.

QUINTEIRO, L. M.C., NOBRE, A. L. R., FERREIRA, A. B. B., GODOY, R. L. O., CASTRO, I. M. Microextração em Fase Sólida: Fundamentos e Aplicações em Análise de Alimentos. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, 21(1)1-30, 2003.

SANCO Document n° 10684/2009. **Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. Disponível em: http://www.crl-pesticides.eu/library/docs/srm/AqcGuidance_Sanco_10476_2003.pdf. Acesso em 27/09/2010.

VAN ZONEN, P. (Ed.). Analytical methods for pesticide residues in foodstuffs, Sixth Edition, **Ministry of Public Health, Welfare and Sport**, The Netherlands. Part I, 1996, p.4.



Agroindústria de Alimentos

CGPE 8750



Agroindústria de Alimentos

**Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

